

PCT/JP 03/09910 #2

日 本 国 特 許 庁
JAPAN PATENT OFFICE

05.08.03

REC'D 19 SEP 2003

WIPO

PCT

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日
Date of Application: 2002年 8月 6日

出 願 番 号
Application Number: 特願2002-229262
[ST. 10/C]: [JP2002-229262]

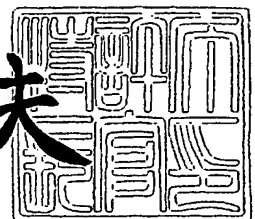
出 願 人
Applicant(s): 東レ株式会社

PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)

2003年 9月 4日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

今 井 康 夫



【書類名】 特許願
【整理番号】 02796
【あて先】 特許庁長官殿
【国際特許分類】 A61K 31/00

【発明者】

【住所又は居所】 神奈川県鎌倉市手広 1 1 1 1 番地 東レ株式会社基礎研
究所内

【氏名】 山田 将輝

【発明者】

【住所又は居所】 神奈川県鎌倉市手広 1 1 1 1 番地 東レ株式会社基礎研
究所内

【氏名】 車谷 元

【発明者】

【住所又は居所】 神奈川県鎌倉市手広 1 1 1 1 番地 東レ株式会社基礎研
究所内

【氏名】 須藤 哲央

【特許出願人】

【識別番号】 000003159

【氏名又は名称】 東レ株式会社

【代理人】

【識別番号】 100088546

【弁理士】

【氏名又は名称】 谷川 英次郎

【電話番号】 03-3238-9182

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 053235

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 9116340

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

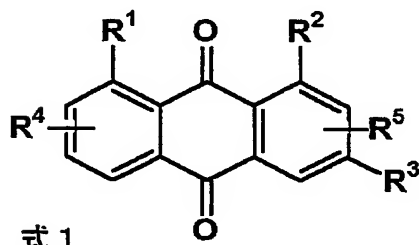
【発明の名称】 腎疾患治療又は予防剤及び腎疾患の診断方法

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 カゼインキナーゼ 2 を阻害する物質を有効成分として含有する腎疾患の治療または予防剤。

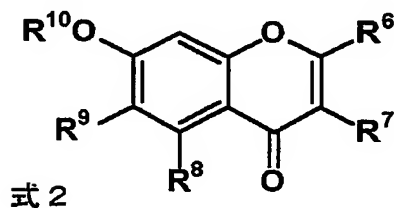
【請求項 2】 カゼインキナーゼ 2 を阻害する物質が、下記式 1、式 2 又は式 4 の一般式で表わされる化合物又はその薬剤上許容できる塩である請求項 1 に記載の腎疾患の治療または予防剤。

【化 1】



(式 1 中、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 は各々独立して水素原子、ヒドロキシル基、ハロゲン原子、C1～4アルキル基、C1～4アルコキシ基、アシルオキシ基、糖残基、置換されていてもよいフェニル基または置換されていてもよいフェニル-C1～4アルコキシ基を示す)、

【化 2】



(但し式 2 中、 R^6 、 R^7 はそれぞれ独立に水素原子または式 3 に表される置換基から選ばれる 1 種乃至は 2 種以上を有していてもよいフェニル基を表し、且つ、 R^6 、 R^7 の少なくとも一方は該置換基を有していてもよいフェニル基であり、 R^8 、 R^9 はそれぞれ独立に水素原子又は式 3 に表される置換基を表し、 R^{10} は水素原子、糖残基、C1～4アルキル基又はアシル基を表し、且つ、 R^{10} は R^9 の基と結合し環を形成していても良い。)

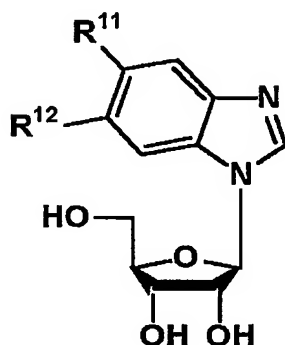
【化 3】



式 3

(但し、式中R¹⁰は式 2 のR¹⁰と同じ意味を表す)、

【化 4】



式 4

(但し式 4 中、R¹¹、R¹²はそれぞれ独立に水素原子、ハロゲン原子、C1～4アルキル基である。)

【請求項 3】 カゼインキナーゼ 2 を阻害する物質が、上記式 1 (各置換基の定義は上記と同じ) で表される化合物又はその薬剤上許容できる塩である請求項 2 記載の腎疾患の治療または予防剤。

【請求項 4】 R¹、R²、R³、R⁴、R⁵は各々独立して水素原子、ヒドロキシル基、又はC1～4アルキル基である請求項 3 記載の腎疾患の治療または予防剤。

【請求項 5】 腎疾患が、糸球体腎炎、間質性腎炎、腎硬化症、糖尿病性腎症、慢性および急性腎不全である請求項 1 ないし 4 のいずれか 1 項に記載の腎疾患の治療または予防剤。

【請求項 6】 生体から分離した試料中のカゼインキナーゼ 2 の活性若しくは含有量又はカゼインキナーゼ 2 遺伝子の発現量を測定することを含む、腎疾患の診断方法。

【請求項 7】 前記試料は、腎細胞である請求項 6 記載の方法。

【請求項 8】 カゼインキナーゼ 2 遺伝子の発現量を測定することを含む請求項 6 又は 7 記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、腎疾患治療又は予防剤及び腎疾患の診断方法に関する。

【0002】

【従来の技術】

腎臓は、体腔背側に左右対をなす泌尿器系器官であり、1) 水分排泄、2) 代謝産物、特に窒素成分排泄、3) 電解質排泄、4) 異種物質排泄、5) 血液浸透圧・体液量および酸・塩基平衡調節など、生体恒常性を維持する。腎臓はさらに、レニンやプロスタグランジンの産生と分泌を介して血圧の調節を、また、エリスロポエチンの産生を介して骨髓における赤血球の産生を行う。腎臓の機能単位であるネフロンは、糸球体、ボーマン嚢、近位尿細管、ヘレン係蹄、遠位尿細管よりなる。ネフロンは集合管に合流し、集合管は腎盂に開口する。糸球体は、球状の毛細血管塊で血液をろ過して原尿を生成しする。原尿は尿細管で再吸収と分泌を受け、最終尿が生成される。通常、糸球体は濾過過程において血液中の必要な物質、特に血清蛋白が尿中に漏出しないように制御しているが、糸球体に障害が生じると構成細胞の1つであるメサングウム細胞の増殖と周辺基質の増加が起こり、尿中への蛋白の排泄量が増加する。尿中蛋白排泄量が増加すると、この蛋白自体が尿細管を障害し、それがさらに糸球体障害を増悪するという悪循環に陥って以後急速に腎機能が低下する。

【0003】

代表的な腎疾患として、糸球体および尿細管間質性腎炎あるいは糖尿病性腎症がある。急性腎炎症候群、急速進行性腎炎症候群、反復性あるいは持続性血尿症候群、慢性腎炎症候群、ネフローゼ症候群、糖尿病性腎症、ループス腎炎、腎硬化症、腎性高血圧、痛風腎、急性腎不全または慢性腎不全などが知られている。腎疾患は複雑で多様な病態を呈するが、いずれも慢性化すると腎不全にいたる重篤な経過をたどることがある。腎不全に陥ると、血液透析や腹膜透析などの透析療法や腎移植が必要となる。重度の障害を受けた腎臓の機能は回復せず、透析を一生継続しなければならない。近年、新規に透析の導入に移行する患者数は年々増加し、経済的、社会的な面から問題となっている。腎不全の原因となる疾患や

病態は数多くあるが、腎炎および糖尿病性腎症は原因疾患として最大の頻度を占めており、腎疾患の治療および予防は腎疾患領域における最大の課題の一つである。このため早い段階での的確な診断および治療が望まれる。

【0004】

現時点での薬物治療は腎炎ではステロイド性抗炎症剤を中心に、病因や病態に応じて免疫抑制剤、抗血小板剤、降圧剤などが用いられる。また糖尿病性腎症においては厳格な血糖コントロールとともに、アンジオテンシン変換酵素阻害剤や、ATIIレセプターブロッカー、カルシウムブロッカーなどの降圧剤が用いられている。しかしながら、これらの従来の腎疾患治療剤では腎不全への進展を十分に阻止することは困難であり、根本的な治療にはほど遠いのが現状である（岡博・和田攻責任編集、「医科学大辞典」、追補5、最新の治療情報、第218ページ、講談社、1988年）。このように腎疾患における薬物治療は未だ試行錯誤の状態である。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】

従って、本発明の目的は、有効な腎疾患治療または予防剤、および腎疾患の診断方法を提供することである。

【0006】

【課題を解決するための手段】

本発明者らは、上記課題を解決するために、抗糸球体基底膜抗体誘発によるラット動物モデルの腎炎を研究対象として鋭意研究を重ねた。すなわち、本モデルの腎疾患状態の腎臓での遺伝子発現と、非腎疾患状態の腎臓での遺伝子発現を比較することにより、腎疾患状態の腎臓で発現する遺伝子の探索を進めたところ、疾患状態の腎において、カゼインキナーゼ2が顕著に増加していることを見いだした。さらに、カゼインキナーゼ2の発現を指標とすることで腎疾患を診断できるうえ、カゼインキナーゼ2の阻害物質の投与により腎疾患の治療または予防することができることを実証し、本発明を完成するに至った。

【0007】

すなわち本発明は、カゼインキナーゼ2を阻害する物質を有効成分として含有

する腎疾患の治療または予防剤を提供する。また、本発明は、生体から分離した試料中のカゼインキナーゼ 2 の活性若しくは含有量又はカゼインキナーゼ 2 遺伝子の発現量を測定することを含む、腎疾患の診断方法を提供する。

【0008】

【発明の実施の形態】

本発明の腎疾患治療又は予防剤の治療又は予防対象となる腎疾患は、腎疾患であれば特に限定されるものではなく、例としては、糸球体腎炎、間質性腎炎、腎硬化症、糖尿病性腎症、慢性および急性腎不全があげられる。さらに、急性糸球体腎炎症候群、急速進行性糸球体腎炎症候群、反復性あるいは持続性血尿症候群、急性糸球体腎炎症候群、ネフローゼ症候群、ループス腎炎、腎性高血圧、痛風腎、急性尿細管間質性腎炎、慢性尿細管間質性腎炎、腎梗塞、薬剤性腎障害、移植腎の機能不全、腎結石や尿管閉塞に伴う腎機能障害などが挙げられる。なお、上記の疾患名は例示であり、かかる例示疾患に本発明における腎疾患の種類が限定されるものではない。本発明は、ヒトの疾患に適用されるほか、サル、イヌ、ネコ、ブタ、ウシ、ウマ、ヒツジ、ヤギ、ウサギ、ラット、マウスなどの哺乳動物にも適用される。

【0009】

上記の通り、本発明の腎疾患治療又は予防剤は、カゼインキナーゼ 2 を阻害する物質を有効成分として含有する。カゼインキナーゼ 2 は蛋白質であり、基質特異性の広い多機能性のプロテインキナーゼの一種である。真核細胞に広く分布し、細胞質、核に存在する。分子量 41000~44000 の α サブユニットと 24000~28000 の β サブユニットからなり、分子量 130000~140000 の $\alpha\alpha\beta\beta$ あるいは $\alpha\alpha'\beta\beta$ の四量体からなる (Biochemistry、28、4072-4076 (1989) ; Biochemistry、29、8436-8447 (1990) ; Biochemistry、28、9053-9058 (1989))。 α サブユニットに活性中心があり、蛋白質のセリン、トレオニン残基をリン酸化し、ATP、GTP をリン酸供与源として利用すると考えられている。しかしながら現在に至るまで、カゼインキナーゼ 2 の生体内における意義や、病態時における意義の解明は十分にはなされていない。さらにカゼインキナーゼ 2 が腎疾患の腎臓で発現することや、カゼインキナーゼ 2 の阻害物質の投与により腎疾患が治療または

予防できることは全く知られていなかった。

【0010】

下記実施例において具体的に記載されるように、本願発明者らは、腎疾患状態にある腎臓細胞中におけるカゼインキナーゼ2遺伝子の発現量が、正常な腎細胞中における発現量よりも有意に多くなっていることを見出し、かつ、カゼインキナーゼ2を阻害する物質を投与することにより、腎疾患状態が有意に改善されることを見出した。従って、本発明の腎疾患治療又は予防剤に有効成分として含有される、カゼインキナーゼ2を阻害する物質は、カゼインキナーゼ2を阻害することができる、薬剤上許容できるいずれのものであってもよい。

【0011】

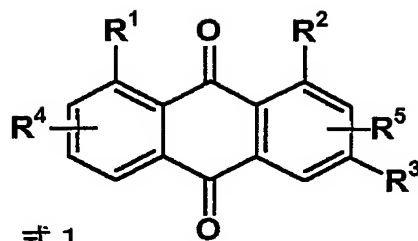
本発明において、腎疾患の治療または予防に有用なカゼインキナーゼ2の阻害物質としては、カゼインキナーゼ2活性の阻害物質（酵素活性の競合的もしくは非競合的な阻害物質）、抗カゼインキナーゼ2抗体、カゼインキナーゼ2発現の阻害物質（転写、翻訳、修飾阻害物質）、カゼインキナーゼ2に関連するシグナル伝達系の阻害物質等のカゼインキナーゼ2を阻害する物質等を挙げることができる、結果的にカゼインキナーゼ2の効果を減少させるものであれば良い。カゼインキナーゼ2の阻害物質とは、カゼインキナーゼ2の機能もしくは酵素活性を競合的もしくは非競合的に阻害する物質であり、阻害作用を有する低分子化合物、高分子化合物、蛋白質、ペプチド、核酸、アプタマーなどがあげられる。なお、カゼインキナーゼ2を阻害する物質自体は、種々のものが公知であり、例えば、エモジン（Battistutta Rら J Biol Chem 2000 275(38):29618-22）、アピゲニン（Shen Jら, J Immunol 2001 167(9):4919-25）等の文献に記載されている。

【0012】

より具体的には、本発明のカゼインキナーゼ2の活性を阻害する物質として、式1で示される化合物をあげることができる。

【0013】

【化5】



式1

【0014】

式1中、R¹、R²、R³、R⁴、R⁵は各々水素原子、ヒドロキシ基、ハロゲン原子、C1~4アルキル基（例えば「C1~4」のような表示は、炭素数が1~4であることを示す、以下同じ）、C1~4アルコキシ基、アシルオキシ基、糖残基、置換されていてもよいフェニル基または置換されていてもよいフェニル-C1~4アルコキシ基である。

【0015】

式1において、ハロゲン原子として好ましくはフッ素、塩素、臭素またはヨウ素が挙げられる。C1~4アルキルとして好ましくはメチル、エチルが挙げられ、C1~4アルコキシとして好ましくはメトキシ、エトキシが挙げられ、アシルオキシとして好ましくは、アセトキシ、ベンゾイルオキシのような、R¹²COO-（R¹²は、C1~4アルキル又は置換されていてもよいフェニル基（置換基の説明としては、下記の「置換されていてもよいフェニル基」の置換基の説明が適用される）が挙げられ、糖残基として好ましくはグルコース、ガラクトース、リボース等のC5~7の単糖類の残基が挙げられる。置換されていてもよいフェニル基は、フェニル基または1つ以上の置換基たとえばC1~4アルキル基特にメチル基、C1~4アルコキシ基特にメトキシ基およびエトキシ基、カルボキシ基、ヒドロキシ基、シアノ基、ハロゲン原子、トリフルオロメチル基、ニトロ基、テトラゾリル基およびアミノ基で置換されたフェニル基である。置換基は、0~3個が好ましく、好ましい有用なものは非置換フェニル基または1個のカルボキシ基、ニトロ基、C1~4アルキル基またはトリフルオロメチル基で置換されたフェニル基である。置換されていてもよいフェニル基-C1~4アルコキシ基は、C1~4アルコキシ基好ましくは-(CH₂)_nO-（nは1~4である）を介して連結される、置換されていてもよい

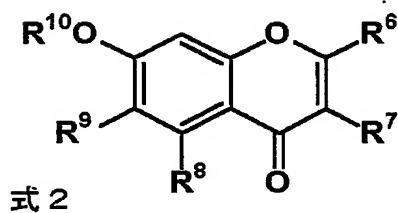
フェニル基（置換基の説明としては、上記の「置換されていてもよいフェニル基」の置換基の説明が適用される）である。好ましい基は置換されていてもよいベンジルオキシ基、特にベンジルオキシ基自体である。

【0016】

さらに、本発明におけるカゼインキナーゼ2の阻害物質の具体例として、次の式2に示す化合物をあげることができる。

【0017】

【化6】



【0018】

（但し式2中、R6、R7はそれぞれ独立に水素原子または式3に表される置換基から選ばれる1種乃至は2種以上を有していてもよいフェニル基を表し、且つ、R6、R7の少なくとも一方は該置換基を有していてもよいフェニル基であり、R8、R9はそれぞれ独立に水素原子又は式3に表される置換基を表し、R10は水素原子、糖残基、C1~4アルキル基又はアシル基を表し、且つ、R10はR9の基と結合し環を形成していてもよい。）

【0019】

【化7】



式3

（但し、式中R10は式2のR10と同じ意味を表す。）

【0020】

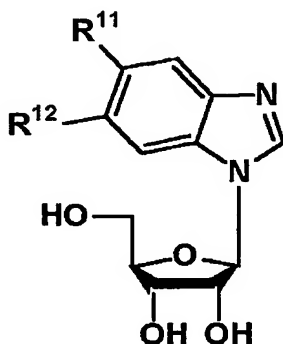
式2について糖残基として好ましくはグルコース、ガラクトース、リボースが挙げられ、C1~4アルキルとして好ましくはメチル、エチルが挙げられ、アシルとして好ましくはアセチル、ベンゾイルが挙げられる。

【0021】

また式4に示される化合物も好ましく用いられる。

【0022】

【化8】



式4

【0023】

(但し式4中、 R^{11} 、 R^{12} はそれぞれ独立に水素原子、ハロゲン原子、C1~4アルキル基である。)

【0024】

上記した種々のカゼインキナーゼ2を阻害する物質は、薬剤上許容できる塩の形態にあってもよい。これらはよく知られた塩基または酸付加塩のいずれかである。塩基性塩の例は水酸化アンモニウムおよびアルカリおよびアルカリ土類金属水酸化物、炭酸塩および重炭酸塩から誘導されるものならびに脂肪族および芳香族アミン、脂肪族ジアミンおよびヒドロキシアルキルアミンから誘導される塩である。このような塩の調製に特に有用な塩基には、水酸化アンモニウム、炭酸カリウム、重炭酸ナトリウム、水酸化リチウム、水酸化カルシウム、メチルアミン、ジエチルアミン、エチレンジアミン、シクロヘキシルアミンおよびエタノールアミンが含まれる。カリウム、ナトリウムおよびリチウム塩形が特に好ましい。酸付加塩は、適当な酸との薬剤上許容されうる非毒性の付加塩、たとえば無機酸たとえば塩酸、臭化水素酸、硝酸、硫酸もしくはリン酸または有機酸たとえば有機カルボン酸、たとえばグリコール酸、マレイン酸、フマル酸、リンゴ酸、酒石酸、クエン酸、サリチル酸もしくはo-アセトキシ安息香酸、または有機スルホン酸、たとえばメタンスルホン酸、2-ヒドロキシエタンスルホン酸、p-トルエンスルホン酸もしくはナフタレン-2-スルホン酸との塩が好ましい。

【0025】

これらのカゼインキナーゼ2の阻害化合物はそれぞれ単独で用いられるほか、2種類以上の化合物を混合して用いても良い。

【0026】

カゼインキナーゼ2を阻害する物質としては、カゼインキナーゼ2の活性を少なくとも部分的に中和する抗カゼインキナーゼ2抗体又はその抗原結合性断片も用いることができる。抗カゼインキナーゼ2抗体は、カゼインキナーゼ2の各サブユニットの蛋白質またはカゼインキナーゼ2蛋白質の部分ペプチドを抗原とするモノクローナル抗体および／若しくはポリクローナル抗体又は抗体の抗原結合性断片であり、カゼインキナーゼ2の活性を少なくとも部分的に中和できる限り、特に制限はなく、カゼインキナーゼ2やそのサブユニットを抗原とし常法に従って作製できる。中和活性を有するポリクローナル抗体は、カゼインキナーゼ2を免疫原として得られた抗血清から常法により回収することができる。また、中和活性を有するモノクローナル抗体は、カゼインキナーゼ2やそのサブユニットを抗原として用いる常法によりモノクローナル抗体を作製し、カゼインキナーゼ2の中和活性を有するものをスクリーニングすることにより得ることができる。

【0027】

また、カゼインキナーゼ2を阻害する物質は、カゼインキナーゼ2を特異的に認識する核酸でもよい。カゼインキナーゼ2発現の阻害物質は、カゼインキナーゼ2の各サブユニットの遺伝子もしくは蛋白質の発現（転写、翻訳）または翻訳後の修飾を阻害する化合物、ペプチド、核酸であり、核酸としては、カゼインキナーゼ2遺伝子に対するアンチセンス・オリゴヌクレオチドやリボザイムが例としてあげられる。さらに、カゼインキナーゼ2アンチセンス遺伝子を含有する遺伝子治療用導入用ベクターおよび該ベクターによりカゼインキナーゼ2アンチセンス遺伝子を導入した細胞、並びに該遺伝子治療用導入用ベクターおよび該ベクターによりカゼインキナーゼ2アンチセンス遺伝子を導入した細胞を有効成分とする遺伝子治療剤などもこの例に含まれる。カゼインキナーゼ2のcDNA配列は公知である（例えば、ヒトカゼインキナーゼ2 β サブユニットのcDNA配列がGenBank Accession No. X57152、ラットカゼインキナーゼ2 β サブユニットの

cDNA配列が^sGenBank Accession No. NM_031021、ラットカゼインキナーゼ2 α サブユニットのcDNA配列が^sGenBank Accession No. L15618、マウスカゼインキナーゼ2 β サブユニットのcDNA配列が^sGenBank Accession No. NM_009975に記載されている。これらのうち、ラットカゼインキナーゼ2 α サブユニット及び β サブユニットのcDNA配列をそれぞれ配列番号3及び4に示す)ので、このような核酸は容易に設計することができる。具体例としては、ラットのカゼインキナーゼ2 β サブユニットのアンチセンス・オリゴヌクレオチドとして5'-G GT TGG CCG GCC GCT TGG GCC-3'を用いることができる。

【0028】

本発明において、カゼインキナーゼ2を有効成分とする腎疾患の治療もしくは予防剤を動物あるいはヒトに投与する場合には、経口、静脈内、筋肉内、皮下、腎臓組織内などいずれの投与形態を用いてもよい。本発明の腎疾患治療あるいは予防剤の剤型としては、注射剤、舌下剤、経皮パップ剤、錠剤、カプセル剤、細粒剤、シロップ剤、座薬、軟膏剤、点眼剤等が挙げられる。これらのうちでは、注射剤、舌下剤、経皮パップ剤が好ましい。また、剤型に応じて、製剤上許容される賦形剤、例えば、乳糖、バレイショデンプン、炭酸カルシウム、又はアルギン酸ナトリウム等を配剤してもよい。さらに、通常製剤に用いるその他の材料、例えば血清アルブミン等の蛋白質、緩衝作用、浸透圧調整のための塩、担体、賦型剤等の成分を配合しても良い。

【0029】

投与量は、投与方法や個体の年齢、体重、疾患の程度などによって異なるが、通常、1日当たり、0.001～100mg/kg体重の範囲で設定される。上記の遺伝子治療の場合には、その安全性を含めて、NIHのガイドラインを参考にしして実施することができる(Recombinant DNA Advisory Committee, Human Gene Therapy, 4, 365-389 (1993))。本発明の腎疾患治療剤または予防剤は、文字通り腎疾患の治療または予防を目的として使用できることは勿論であるが、腎疾患の、維持(悪化防止)、軽減(症状の改善)等を目的として投与することもできる。さらに本発明は、カゼインキナーゼ2を阻害する物質を用いた腎疾患の治療方法を含む。

【0030】

また本発明の腎疾患の治療または予防剤は、従来の腎疾患治療に用いられるステロイド、免疫抑制剤、降圧剤（例：カルシウムブロッカー、アンジオテンシン変換酵素阻害剤、ATIIレセプターブロッカー、 α 受容体遮断薬）、抗血小板薬（例：ジピリダモール、ジラゼップ）、抗凝固薬、などの薬剤と併用して用いることができる。またHGFなどを導入することによる遺伝子治療と組み合わせて用いることができる。これらの薬剤を組み合わせる場合、各薬物を別々にあるいは同時に、薬理学的に許容されうる担体、賦形剤、結合剤、希釈剤などと混合して製剤化し、医薬組成物として経口的にまたは非経口的に投与することができる。薬物を別々に製剤化した場合、別々に製剤化したものを使用時に希釈剤などを用いて混合して投与することができるが、別々に製剤化した個々の製剤を、同時に、あるいは時間差をおいて別々に、同一対象に投与してもよい。

【0031】

上記の通り、本願発明者らは、腎疾患状態にある腎細胞中でのカゼインキナーゼ2遺伝子の発現量が、正常な腎細胞中における発現量よりも有意に多くなっていることを見出した。従って、本発明は、生体から分離した試料中のカゼインキナーゼ2の活性若しくは含有量又はカゼインキナーゼ2遺伝子の発現量を測定することを含む、腎疾患の診断方法をも提供する。ここで、「生体から分離した試料」は、腎細胞が好ましい。

【0032】

カゼインキナーゼ2の発現を指標とする腎疾患の診断方法は、カゼインキナーゼ2の α サブユニット、 α' サブユニットおよび β サブユニットの発現、特に遺伝子の発現、蛋白質の発現および酵素活性の発現を対象に実施することができる。まず、診断対象とする腎臓およびその対照とする非腎疾患状態の腎臓からRNAもしくは蛋白質をそれぞれ抽出する。抽出した各RNAもしくは蛋白質の一定量ずつを検体として、カゼインキナーゼ2の発現をそれぞれ検出する。診断対象とする腎臓でのカゼインキナーゼ2の発現と、その対照とする非腎疾患状態の腎臓でのカゼインキナーゼ2の発現を比較することにより、診断対象とする腎臓における腎疾患状態を診断できる。診断対象とする腎臓でのカゼインキナーゼ2の発現

が、その対照とする非腎疾患状態の腎臓でのカゼインキナーゼ 2 の発現よりも高い場合には、診断対象とする腎臓は腎疾患状態にあり、特にカゼインキナーゼ 2 が関与する腎疾患状態と診断される。

【0033】

カゼインキナーゼ 2 の遺伝子の発現は、RT-PCR法 (Polymerase chain reaction method) (「PCR Protocols」 Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ and White T J eds., Academic Press, Sandiego (1990))、ノーザンブロット法 (Molecular Cloning, Cold Spring Harbor Lab. (1989))、アレイ法、DNAチップ法、in situハイブリダイゼーション法、in situ RT-PCR (Nucl. Acids Res., 21, 3159-3166 (1993)) などを利用して検出することができる。これらの方法自体は、いずれも周知のものであり、上記の通り、カゼインキナーゼ 2 の cDNA 配列も公知であるから、当業者であれば、細胞中のカゼインキナーゼ 2 の遺伝子の発現は容易に行うことができるし、下記実施例にも一例が詳細に記載されている。RT-PCR法による検出はより好ましく用いられる。すなわち、抽出した各RNAの一定量ずつより、逆転写反応を用いてcDNAをそれぞれ合成する。合成した各cDNAの一定量ずつを鋳型にして、カゼインキナーゼ 2 のプライマーを用いてPCR法を行い、これらをそれぞれ増幅する。増幅した各PCR産物の一定量ずつをアガロースゲル電気泳動した後、エチジウムブロマイド染色を行い、カゼインキナーゼ 2 の遺伝子の発現をそれぞれ検出する。なお、カゼインキナーゼ 2 の遺伝子に関してPCRを行う際には、恒常的に発現している遺伝子 (例えばG3PGHや β アクチンなどのハウスキーピング遺伝子) を内部標準として同様にPCR法を行い、そのPCR産物の一定量をアガロースゲル電気泳動した後、エチジウムブロマイド染色を行って遺伝子の発現を検出し、カゼインキナーゼ 2 の遺伝子の発現の検出結果を補正するとよい。これらはいずれも常法である。上記で得られる各PCR産物は、常法、例えばジデオキシ法 (Proc. Natl. Acad. Sci., USA., 74, 5463 (1977)) やマキサム-ギルバート法 (Methods in Enzymology, 65, 499 (1980)) などに従って、また簡便には市販のシークエンスキットなどを用いて、その塩基配列情報を確認するとよい。カゼインキナーゼ 2 の遺伝子のPCRに用いるプライマーは、カゼインキナーゼ 2 の各サブユニットの遺伝子のみを特異的に増幅できる特有のもの

である限り、特に制限はなく、これら遺伝子の完全長cDNAの公知（上述）の塩基配列情報をもとに適宜設定できる。すなわち、センスプライマーとしては、カゼインキナーゼ2のcDNAのセンス鎖と同一の塩基配列を有するオリゴヌクレオチドを用いることができ、また、アンチセンスプライマーとしては、カゼインキナーゼ2のcDNAのアンチセンス鎖と同一の塩基配列を有するオリゴヌクレオチドを用いることができる。センスプライマーとアンチセンスプライマーとで挟まれる領域がPCRにより増幅される。また、プライマーとして用いるオリゴヌクレオチドは、市販の化学合成機を用いて、常法に従って合成できる。プライマーのサイズは、特に限定されないが、通常、15～30塩基程度である。例えば、ラットのカゼインキナーゼ2βサブユニットのプライマーの場合では、センス・プライマー；5'-ccgcggacataaagatgagt-3'、アンチセンス・プライマー；5'-aaccagtgccgaagtatgc-3'を用いることができる。このようにして、カゼインキナーゼ2の遺伝子の発現を特異的にかつ簡便に検出することができる。

【0034】

また、カゼインキナーゼ2の蛋白質の発現を指標とする場合では、上記カゼインキナーゼ2の各サブユニットの蛋白質またはカゼインキナーゼ2蛋白質の部分ペプチドを抗原とするモノクローナル抗体および／またはポリクローナル抗体もしくはその抗体の抗原結合性断片を用いて、酵素結合イムノソルベントアッセイ（エライザ、ELISA）、放射線免疫検定法（ラジオイムノアッセイ、RIA）、および酵素免疫法（エンザイムイムノアッセイ、EIA）、ウエスタンブロット解析法、ドットブロット解析法、プロテインチップ解析法、免疫染色解析法などを利用して、カゼインキナーゼ2の蛋白質またはカゼインキナーゼ2蛋白質の部分ペプチドを検出する。カゼインキナーゼ2の蛋白質の検出に用いる抗体もしくは抗体の部分は、カゼインキナーゼ2の各サブユニットの蛋白質またはカゼインキナーゼ2蛋白質の部分のみを特異的に検出できる特有のものである限り、特に制限はなく、それらを抗原とし常法に従って作製できる。また、上記した各種免疫測定方法やその他の解析法自体は周知であり、また、カゼインキナーゼ2自体も公知の方法により容易に調製できるので、容易に実施することができる。

【0035】

さらに、カゼインキナーゼ 2 の酵素活性の発現を指標とする場合では、蛋白リン酸化解析法、細胞内局在変化解析法などを利用して、または酵素活性解析法を利用して、カゼインキナーゼ 2 の蛋白質またはカゼインキナーゼ 2 蛋白質の部分ペプチドに酵素基質を接触させた場合における、カゼインキナーゼ 2 の蛋白質またはカゼインキナーゼ 2 蛋白質の部分ペプチドの酵素活性を検出する。上記において、酵素基質としてはカゼインキナーゼ 2 の蛋白質またはペプチドなどの酵素基質となり得るものであれば何れのものでもよく、通常、カゼインの蛋白質やカゼインキナーゼ 2 蛋白質の部分ペプチドが用いられる。例えば、検体に、酵素基質として $\text{Arg-Arg-Arg-Glu-Glu-Glu-Thr-Glu-Glu}$ (0.73 mM) を緩衝液 (100 mM Tris-HCl、pH 7.6、20 mM MgCl_2 、150 mM NaCl、5 mM NaF、0.1 mM mM [γ - ^{32}P]GTP、550 cpm/pmol) 中で 37℃、10 分間インキュベートすればよい。

【0036】

上記のプライマーや抗体などの産生技術および精製する技術は当該分野においてよく知られており、本発明のカゼインキナーゼ 2 の発現を特徴とする腎疾患の診断方法には、上記の通りカゼインキナーゼ 2 の遺伝子の発現、蛋白質の発現、酵素活性の発現を検出する方法がある。カゼインキナーゼ 2 の遺伝子発現を検出するためには、カゼインキナーゼ 2 遺伝子、それに対するプライマーおよび／またはプローブが利用できる。カゼインキナーゼ 2 を検出するためには、カゼインキナーゼ 2 またはその部分ペプチドに対する抗体もしくは抗体の部分、またはカゼインキナーゼ 2 を特異的に認識する核酸 (アプタマー) が利用できる。さらに、カゼインキナーゼ 2 酵素基質を腎疾患の診断に使用することも包含される。これらの技術を適宜選択することができ、カゼインキナーゼ 2 の発現の検出のための試薬キットを利用することによって、腎疾患の診断を簡便に実施することができる。故に本発明の腎疾患の診断方法は、上記のカゼインキナーゼ 2 の発現を指標とする、腎疾患の診断用試薬キット、試薬が提供される。

【0037】

本発明の腎疾患の診断方法は、上記の各種のヒト腎疾患の診断に広く用いるこ

とができるばかりでなく、各種の腎疾患モデル動物に用いることができる。例えば抗糸球体基底膜抗体により誘発する腎疾患動物モデルに好ましく用いることができる。すなわち、本発明の方法により、腎疾患動物モデルが本当に腎疾患に罹患しているか否かのチェックを容易に行うことができる。抗糸球体基底膜抗体誘発による腎疾患動物モデルは、ラットやマウスにウサギより得た抗糸球体基底膜抗血清を投与することにより作製できる。抗糸球体基底膜抗血清は、ラットやマウスの腎皮質から糸球体基底膜を調製し、これをフロインドの完全アジュバントと共にウサギに与え、血清を得ることで調製できる（「新薬開発のための薬効スクリーニング法—最新の動向と実際—Vol.1」、小澤光監修、清至書院、1984、P. 143）。最も一般的な原発性糸球体腎炎の病態モデルとして広範に利用される。形態上および臨床症候上の分類から原発性糸球体腎炎の中でも、半月体形成性糸球体腎炎および急性進行性糸球体腎炎に最も類似した病態モデルである。病態は、腎機能マーカーの尿中蛋白排泄量や、血中のクレアチニンの濃度、内因性クレアチニン・クリアランスを測定することにより把握できる。クレアチニンは腎臓から全く吸収されないため、腎疾患により糸球体濾過機能の低下すると、血中のクレアチニンの濃度が増加するので、血中のクレアチニンの濃度やクレアチニン・クリアランスは腎機能のよいマーカーとなる。腎炎誘発後2週目では、血中クレアチニン濃度が正常値の約2倍に上昇し、一般的な糸球体濾過能の低下を伴う腎炎・腎不全の病態を呈する。他の腎疾患動物モデルとしては、1) Thy-1モノクローナル抗体や抗胸腺抗体を用いる方法、2) 遺伝性ネフローゼラットおよびマウスを用いる方法、3) マウス、ラットでの自然発症糖尿病モデルを用いる方法、4) マウス、ラットにストレプトゾトシンあるいはアロキサンを投与して惹起した糖尿病モデル動物を用いる方法、5) 5/6腎臓摘出モデルを用いる方法などが有用である。

【0038】

【実施例】

以下、本発明を実施例に基づきより具体的に説明する。なお下記実施例において、各操作は特に明示がない限り化学、分子生物学、微生物学、組換えDNA、遺伝学および免疫学の慣用的な方法を用いることができる。これらは、例えば

サムブルック (Sambrook, J., et al., Molecular cloning: A laboratory manual, 2nd Ed., Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, New York (1981)) に記載の方法により行うか、または市販の試薬やキットを用いる場合には市販品の指示書に従って行った。

【0039】

実施例 1

カゼインキナーゼ 2 の発現を指標として、腎疾患を診断した。すなわち、ラット (Wistar-Kyoto系、雄性、体重 190 ~ 210 g) を対象として、腎臓でのカゼインキナーゼ 2 の β サブユニット遺伝子の発現を RT-PCR 法を用いて検出し、これを指標として腎疾患を診断した。まず、診断対象とする腎臓、および、その対照とする非腎疾患状態の腎臓から常法により RNA をそれぞれ抽出し、各 RNA の 1 μ g ずつより逆転写反応を用いて cDNA をそれぞれ合成した。合成した各 cDNA の 1 μ l ずつを鋳型にして、カゼインキナーゼ 2 の β サブユニットのプライマーを用いて、市販の PCR 用キットにより PCR 法を行い、これらをそれぞれ増幅した。プライマーは、ラットのカゼインキナーゼ 2 β サブユニット遺伝子の完全長 cDNA の塩基配列をもとにセンス・プライマー; 5'-ccg cgg aca taa aga tga gt-3'、アンチセンス・プライマー; 5'-aaa cca gtg ccg aag tat gc-3' を作製して用いた。また、PCR の温度サイクルは、94℃で 30 秒間、58℃で 30 秒間、72℃で 40 秒間からなる行程を 1 サイクルとし、30 サイクル行い、最後に 4℃にて終了するようにして行った。増幅した各 PCR 産物の 10 μ l ずつをアガロースゲル電気泳動した後、エチジウムブロマイド染色を行い、カゼインキナーゼ 2 の遺伝子の発現をそれぞれ測定した。この測定は、カゼインキナーゼ 2 の遺伝子の発現を、検出したカゼインキナーゼ 2 を写真撮影して画像ファイル化し、マッキントッシュ上のソフトウェア NIH Image を用いて数値化することにより行った。なお、カゼインキナーゼ 2 の遺伝子に関して PCR を行う際には、恒常的に発現している遺伝子 (ハウスキーピング遺伝子) の G3PGH を内部標準として検出し、カゼインキナーゼ 2 遺伝子の発現の検出結果を補正した。

【0040】

診断対象とする腎臓でのカゼインキナーゼ 2 の遺伝子の発現と、その対照とす

る非腎疾患状態の腎臓でのカゼインキナーゼ2の遺伝子の発現を比較したところ、診断対象とする腎臓でのカゼインキナーゼ2の発現は、その陰性対照とする非腎疾患状態の腎臓でのカゼインキナーゼ2の発現よりも高かった(表1)。したがって、診断対象とする腎臓は腎疾患状態にあり、特にカゼインキナーゼ2が関与する腎疾患状態と診断された。そこで、これらの診断結果を検証するために、腎疾患状態にあると診断されたラット個体の腎機能マーカーとして広く用いられている尿中蛋白排泄量を測定した。また、その対照とする非腎疾患状態の個体についても同様に測定した。その結果、腎疾患状態にあると診断された個体の尿蛋白は、非腎疾患状態の個体のものよりも明らかに高かった(表2)。よって、本診断法によって腎疾患状態にあると診断された個体は、確かに腎疾患状態にあることが確かめられ、本発明の診断方法が、腎疾患の病態を的確に判定できることが実証された。

【0041】

【表1】

カゼインキナーゼ2の遺伝子の発現を指標として腎疾患を診断した時の、カゼインキナーゼ2遺伝子の発現の検出結果を数値として示す。

腎臓	発現比 (カゼインキナーゼ2/G3PDH)
診断対象の腎臓	4.5
非腎疾患状態の腎臓	1.4

【0042】

【表2】

カゼインキナーゼ2の遺伝子の発現を指標として腎疾患状態にあると診断された個体の、尿蛋白の測定結果を示す。

個体	尿蛋白 (mg/日)
----	------------

腎疾患状態にあると診断された個体	146.2
非腎疾患状態の個体	37.4

【0043】**実施例 2**

腎炎のラットモデルにおけるカゼインキナーゼ 2 阻害剤投与の効果を検討した。ラット (Wistar-Kyoto系、雄性、体重 190～210 g) にウサギの抗糸球体基底膜抗血清 (0.03 ml/kg) を静脈内より注射し、腎炎を誘発した。正常群のラットには、正常ウサギ血清 (0.3 ml/kg) を静脈内投与した。カゼインキナーゼ 2 阻害剤として知られている 3-メチルー 1,6,8-トリヒドロキシアントラキノン (Battistutta R et al. J Biol Chem 2000, 275(38):29618-22) を、カゼインキナーゼ 2 阻害のために十分とされる体重 1 kg あたり 20 mg の投与量で、腎炎誘発後 1 日目から 14 日目まで連日 1 日 1 回、腎炎ラットに腹腔内投与した。投与した 3-メチルー 1,6,8-トリヒドロキシアントラキノン溶液の組成は、3-メチルー 1,6,8-トリヒドロキシアントラキノンを、ジメチルスルホキシドと 0.5% (w/v) カルボキシメチルセルロース・ナトリウムの 1:4 の割合の混合液であった。カゼインキナーゼ 2 阻害剤を投与しないラットには、溶媒のみを腹腔内投与した。すなわち、実験群の構成は、正常群 (カゼインキナーゼ 2 阻害剤を投与しない正常ラット、n=5)、腎炎対照群 (カゼインキナーゼ 2 阻害剤を投与しない腎炎ラット、n=5) および、腎炎+カゼインキナーゼ 2 阻害剤投与群 (本発明群、カゼインキナーゼ 2 阻害剤を投与する腎炎ラット、n=5) の 3 群である。誘発後 7 日目にすべてのラットを代謝ケージに入れ 24 時間分の尿を採取し、尿蛋白を定量した。なお、検量線はラットアルブミンを用いて作成した。誘発後 14 日目に、ラットを代謝ケージに入れ 24 時間分の尿を採取し、尿中のクレアチニン濃度を測定した。また、尾静脈より採血し、血中のクレアチニン濃度を定量した。尿中のクレアチニン濃度と血中のクレアチニン濃度からクレアチニン・クリアランスを算出した。

【0044】

結果を図 1、2 および 3 に示した。本発明であるカゼインキナーゼ 2 阻害剤は

腎疾患の重要な指標である蛋白尿を有意に低下させるとともに、血中のクレアチニン濃度、クレアチニン・クリアランスをほぼ正常化させた。つまり、カゼインキナーゼ2阻害剤を投与することにより、腎疾患が治療できることを示している。カゼインキナーゼ2の阻害剤投与群と腎炎対照群間に体重の差はなく、また各臓器の障害は何ら認められなかったことから、本化合物が腎疾患の治療剤として安全に用いられることが明らかであった。

【0045】

【発明の効果】

本発明による腎疾患治療剤または予防剤は、従来の薬剤で十分な効果が期待できなかった腎疾患の優れた治療剤または予防剤となる。さらに本発明の診断方法によって腎疾患の病態を的確に効率よく診断することができる。

【 0 0 4 6 】

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<110> TORAY INDUSTRIES, INC.
<120> Agent for therapy and/or prevention of kidney diseases and method
for diagnosing kidney diseases
<130> 02796
<160>

【 0 0 4 7 】

<210> 1
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> oligonucleotide primer used for PCR for amplification of rat case
in kinase 2 β subunit gene
<400> 1
ccgcggacat aaagatgagt 20

【 0 0 4 8 】

<210> 2
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> oligonucleotide primer used for PCR for amplification of rat case
in kinase 2 β subunit gene
<400> 2
aaaccagtgc cgaagtatgc 20

【 0 0 4 9 】

<210> 3

<211> 2180

<212> DNA

<213> rat

<400> 3

gggttcttcc ttcatatgcc agctagagag ccttgcctcc ctggagctca tagtccaggc 60
tgtgttctgg ggacctgagg ggtgtggtca gggcacagag actctctcag agcactggga 120
gtgggattcc tgctgtaagg gaagggatgt cataggctcag ttgaccaatg accagacctt 180
aacatggctc ccagccttag gcatgcggag cctaggagtc ccttcaaccc tggcctgtga 240
ttttccagc tcagatgaca aagacatcta ggcccagtgt cttgagaatc cctatagtca 300
aggattagag tcctcctcag tgagtcagct cccccagtca gtaccctcac aagatatcaa 360
ccgaattcgg tttttttttt tttttttttt taaatatgta aggctttcaa tttattacag 420
atcacccaag aacataatga tatacatgta gtcagaaaac acgatgtaga aatcatagtg 480
agttgtccag acatagtcag tagattattc tttctggcat gctccagtgt caagacctca 540
ataaagagca ctaaaatcct tccatacaat taagtatcag cgatgtacca tattgcagaa 600
aggggtggct gagcaacagt ttgttgatac tataagactt ccatgctcaa cagtcgtagc 660
gttgactca gcacagctct ggtttccata taaaatttt ccatctcgta ggggagcgcg 720
gctagtccg ctgccgttc caccgcagta actgccagat cttccaacat cacgttcagc 780
tttgtccgtc aacctgtctg ac atg tcg gga ccc gtg cca agc agg gcc aga 832

Met Ser Gly Pro Val Pro Ser Arg Ala Arg

1 5 10

gtt tac aca gat gtt aac aca cac aga ccc cga gag tac tgg gac tat 880

Val Tyr Thr Asp Val Asn Thr His Arg Pro Arg Glu Tyr Trp Asp Tyr

15 20 25

gaa tca cat gtg gtg gaa tgg gga aat caa gat gac tac cag ctt gtt 928

Glu Ser His Val Val Glu Trp Gly Asn Gln Asp Asp Tyr Gln Leu Val

30 35 40

cga aaa tta ggc agg ggc aaa tac agt gaa gtg ttt gag gcc atc aat 976

Arg Lys Leu Gly Arg Gly Lys Tyr Ser Glu Val Phe Glu Ala Ile Asn

45	50	55	
atc aca aat aat gaa aaa gtt gtt gtt aaa att ctc aag cca gta aaa			1024
Ile Thr Asn Asn Glu Lys Val Val Val Lys Ile Leu Lys Pro Val Lys			
60	65	70	
aag aag aaa att aag cgt gaa ata aag att ttg gag aat tta aga ggt			1072
Lys Lys Lys Ile Lys Arg Glu Ile Lys Ile Leu Glu Asn Leu Arg Gly			
75	80	85	90
ggg ccc aac atc atc aca ctt gca gac att gtg aaa gac cct gtg tct			1120
Gly Pro Asn Ile Ile Thr Leu Ala Asp Ile Val Lys Asp Pro Val Ser			
95	100	105	
cga acc cct gcc ttg gtt ttt gaa cat gta aac aac aca gac ttc aag			1168
Arg Thr Pro Ala Leu Val Phe Glu His Val Asn Asn Thr Asp Phe Lys			
110	115	120	
caa ttg tac cag acg tta aca gac tat gac att cga ttt tac atg tat			1216
Gln Leu Tyr Gln Thr Leu Thr Asp Tyr Asp Ile Arg Phe Tyr Met Tyr			
125	130	135	
gaa att ctg aaa gcc ctg gat tat tgt cac agc atg ggg att atg cac			1264
Glu Ile Leu Lys Ala Leu Asp Tyr Cys His Ser Met Gly Ile Met His			
140	145	150	
aga gac gtg aaa ccg cat aat gtc atg att gat cat gag cac aga aag			1312
Arg Asp Val Lys Pro His Asn Val Met Ile Asp His Glu His Arg Lys			
155	160	165	170
ctt cgg cta ata gat tgg ggt tta gca gag ttt tac cat cct ggc caa			1360
Leu Arg Leu Ile Asp Trp Gly Leu Ala Glu Phe Tyr His Pro Gly Gln			
175	180	185	
gag tat aat gtc cga gtt gct tcc cga tat ttc aaa ggt cca gag cta			1408
Glu Tyr Asn Val Arg Val Ala Ser Arg Tyr Phe Lys Gly Pro Glu Leu			
190	195	200	
ctt gta gat tat cag atg tac gat tat agt ttg gat atg tgg agc ttg			1456

Leu Val Asp Tyr Gln Met Tyr Asp Tyr Ser Leu Asp Met Trp Ser Leu	
205	210 215
ggt tgt atg ctg gca agt atg atc ttc cgg aag gag cca ttt ttc cat	1504
Gly Cys Met Leu Ala Ser Met Ile Phe Arg Lys Glu Pro Phe Phe His	
220	225 230
gga cat gac aat tat gat cag ttg gtg agg ata gcc aag gtt ctg gga	1552
Gly His Asp Asn Tyr Asp Gln Leu Val Arg Ile Ala Lys Val Leu Gly	
235	240 245 250
acg gaa gat tta tat gac tat att gac aag tac aac att gaa tta gat	1600
Thr Glu Asp Leu Tyr Asp Tyr Ile Asp Lys Tyr Asn Ile Glu Leu Asp	
255	260 265
cca cgt ttc aac gat atc ttg ggc aga cac tcc cgt aag cga tgg gaa	1648
Pro Arg Phe Asn Asp Ile Leu Gly Arg His Ser Arg Lys Arg Trp Glu	
270	275 280
cgc ttt gtc cac agt gaa aac cag cac ctt gtc agc ccc gag gcc ttg	1696
Arg Phe Val His Ser Glu Asn Gln His Leu Val Ser Pro Glu Ala Leu	
285	290 295
gat ttt ctg gac aag ctg ctg cga tac gac cac cag tct cgg ctc act	1744
Asp Phe Leu Asp Lys Leu Leu Arg Tyr Asp His Gln Ser Arg Leu Thr	
300	305 310
gca aga gag gcc atg gag cac cct tac ttc tac act gtc gtg aag gac	1792
Ala Arg Glu Ala Met Glu His Pro Tyr Phe Tyr Thr Val Val Lys Asp	
315	320 325 330
cag gct cga atg agt tcg gct ggc atg gca ggg ggc agc aca cct gtc	1840
Gln Ala Arg Met Ser Ser Ala Gly Met Ala Gly Gly Ser Thr Pro Val	
335	340 345
agt agc gcc aat atg atg tca ggg att tct tca gtg cca acc cct tca	1888
Ser Ser Ala Asn Met Met Ser Gly Ile Ser Ser Val Pro Thr Pro Ser	
350	355 360

ccc ctg gga cct ctg gca ggc tca ccc gtg att gct gct gcc aac tca 1936
 Pro Leu Gly Pro Leu Ala Gly Ser Pro Val Ile Ala Ala Ala Asn Ser

365

370

375

ctt ggg ata ccc gta cca gct gcc gct ggc gct cag cag taa tgaccccat 1987
 Leu Gly Ile Pro Val Pro Ala Ala Ala Gly Ala Gln Gln

380

385

390

ctgtcttctg atgcctgggc agaggtggga cgtccaccct ctccttaatg cagcttgcg 2047
 ctgggtggga ggggtgagaa cacttcagaa gcaccgtgtc tgaaccgttg cttgtggatt 2107
 tagtagttga gtcataaaaa aaattatagg ctgattttct ttcttttttt tttttttttt 2167
 tttaaaaaaa ccg 2180

【0050】

<210> 4

<211> 1964

<212> DNA

<213> rat

<400> 4

ggctgccgcg gcccggtcgg ctttctgcgc tgtagcggtc tctgccgttc cttggaagca 60
 cagctcccct tccccgccc agtcccagtc cccgtccggc cgcggacata aag atg 116

Met

1

agt agc tct gag gag gtg tcc tgg att tcc tgg ttc tgt ggg ctc cgt 164
 Ser Ser Ser Glu Glu Val Ser Trp Ile Ser Trp Phe Cys Gly Leu Arg

5

10

15

ggt aat gaa ttc ttc tgt gag gtg gat gaa gac tac atc cag gac aaa 212
 Gly Asn Glu Phe Phe Cys Glu Val Asp Glu Asp Tyr Ile Gln Asp Lys

20

25

30

ttt aat ctt act gga ctc aat gag cag gtg cct cac tat cga caa gcc 260
 Phe Asn Leu Thr Gly Leu Asn Glu Gln Val Pro His Tyr Arg Gln Ala

35

40

45

cta gac atg atc ttg gac ctg gaa cct gat gaa gag ctg gaa gac aac 308
Leu Asp Met Ile Leu Asp Leu Glu Pro Asp Glu Glu Leu Glu Asp Asn
50 55 60 65
ccc aac cag agt gac ttg att gag cag gcg gcc gag atg ctc tat ggg 356
Pro Asn Gln Ser Asp Leu Ile Glu Gln Ala Ala Glu Met Leu Tyr Gly
70 75 80
ttg atc cac gcc cgc tac atc ctc acc aac cgg ggc att gca caa atg 404
Leu Ile His Ala Arg Tyr Ile Leu Thr Asn Arg Gly Ile Ala Gln Met
85 90 95
ttg gaa aag tac cag caa gga gac ttt ggc tac tgt cct cga gta tac 452
Leu Glu Lys Tyr Gln Gln Gly Asp Phe Gly Tyr Cys Pro Arg Val Tyr
100 105 110
tgt gag aac cag ccg atg ctt ccc atc ggc ctt tcg gac atc cca gga 500
Cys Glu Asn Gln Pro Met Leu Pro Ile Gly Leu Ser Asp Ile Pro Gly
115 120 125
gag gcc atg gtg aag ctc tac tgc ccc aag tgc atg gac gtg tac aca 548
Glu Ala Met Val Lys Leu Tyr Cys Pro Lys Cys Met Asp Val Tyr Thr
130 135 140 145
ccc aag tcc tct agg cac cac cac acg gat ggc gca tac ttc ggc act 596
Pro Lys Ser Ser Arg His His His Thr Asp Gly Ala Tyr Phe Gly Thr
150 155 160
ggt ttc cct cac atg ctc ttc atg gtg cat ccc gag tac cgg ccc aag 644
Gly Phe Pro His Met Leu Phe Met Val His Pro Glu Tyr Arg Pro Lys
165 170 175
cgg ccg gcc aac cag ttt gtg ccc agg ctc tac ggt ttc aag atc cat 692
Arg Pro Ala Asn Gln Phe Val Pro Arg Leu Tyr Gly Phe Lys Ile His
180 185 190
cca atg gcc tac cag ctg cag ctc caa gcc gcc agc aac ttc aag agc 740
Pro Met Ala Tyr Gln Leu Gln Leu Gln Ala Ala Ser Asn Phe Lys Ser

195 200 205
 cca gtc aag acg att cgc tga gtgccctccc acctcctctg cctgtgacac cacc 795
 Pro Val Lys Thr Ile Arg
 210
 gtccctccgc tgccaccctt tcaggaagtc tatggttttt agtttaaatt aaaggaattg 855
 ttactgtggg ggggatatga aataaaggaa gagaaggcta aaaaaaaaaa aaaaaaccga 915
 attcggcatc tcacctaggt gtatacagct gcacattacc aatggctgca gaacacccaa 975
 tcatgacctc tagtgcttta tagcaaaagt gtaaagtggg acctgggtga ccagcattgc 1035
 catggttaca tccatttgcg taatcaagca gctgtgcaac tgctcttcta acagatgaac 1095
 agctgcatgc atctccagca ggcatggatt gtctcttgct tatgatcctc agtgcgttca 1155
 cttagagtat ttctagagtt tgagtccttg ccgtgataga gccatgtagg gaatgcactg 1215
 attgcatgtt accccaagcg tcatgaaacc ttccgacacg gtgacctatt taatgggtctt 1275
 gtttgttgac atgacaaatt aacattctta gagttacatc tcgaaaaaag catttgtgat 1335
 agataagccc tttgagcctt gtggctaaat ttttgtggct ttgtttaact ttcaaagggt 1395
 atatatgcac taaccttttt tgatggctaa gtaggcttta aattacagta aatTTTTTca 1455
 aataaaactg gctgtaaaat atattttgaa ttagagttgt tcactttttc atagctactt 1515
 atgttttttt cccaataatt tatttcacat ctctaccagt gaacgcagcc catcactaga 1575
 aaatgacctt gtcctgattt cagtttcaac tattagtttt aaagctcact gttgaataag 1635
 aggaagtggg ggtgcatttt aaattgactt tcatgtgctt ttaaaatatg acagatctcc 1695
 ttgataatgt acttttattt gatctcaagt tgtataaaac caataaattt gtgttacttt 1755
 gattgcagta gtatcttatg catagtgtt ccatgttata tgcagactag ttaggcaact 1815
 gttttcttag ttacaagctt cacttttgtg cagttaaaaa aacaaaagta ggctacagtc 1875
 tgtgccatgt tgatgtacag tttctgaaat tgttttacaa gactttgata ataaaaccct 1935
 taaactcaca aaaaaaaaaa aaaaaaacc 1964

【図面の簡単な説明】

【図 1】

腎炎のラットモデルにおける尿中蛋白排泄量に対するカゼインキナーゼ 2 阻害剤投与の効果を示す。* : $p < 0.01$

【図 2】

腎炎のラットモデルにおける血中クレアチニン濃度に対するカゼインキナーゼ
2 阻害剤投与の効果を示す。* : $p < 0.01$

【図 3】

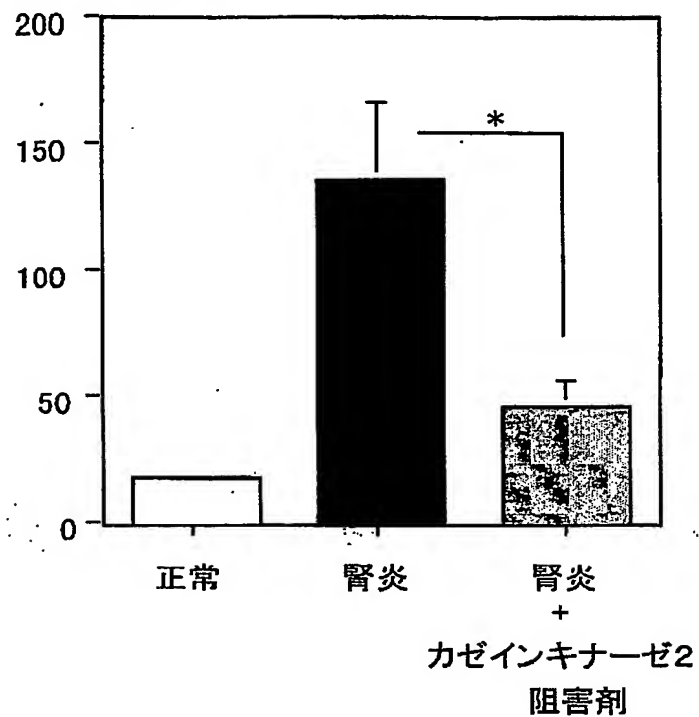
腎炎のラットモデルにおける内因性クレアチニンクリアランスに対するカゼイ
ンキナーゼ 2 阻害剤投与の効果を示す。* : $p < 0.01$

【書類名】

図面

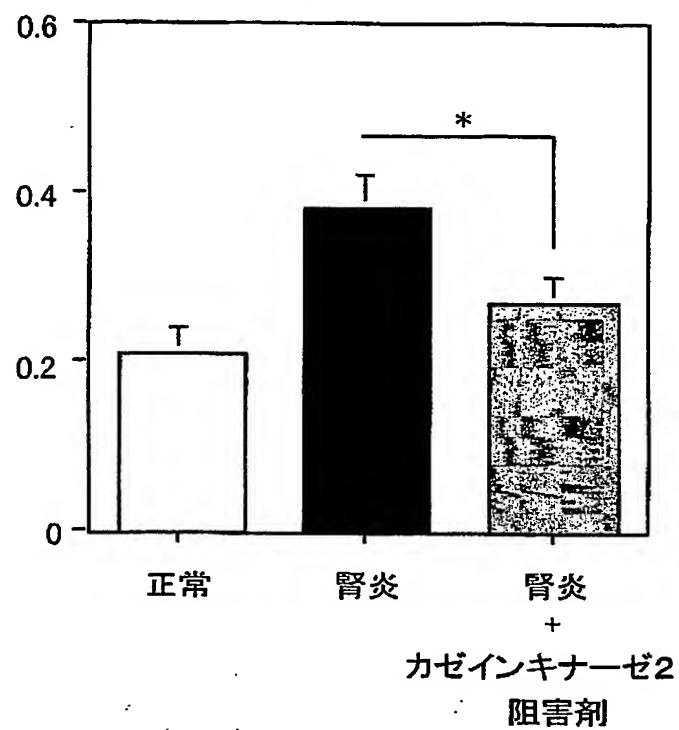
【図 1】

尿蛋白 (mg/day)



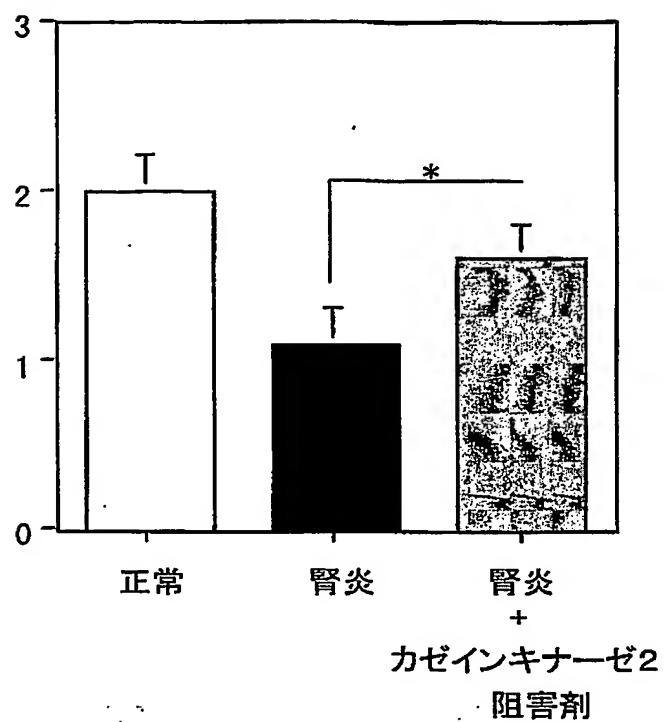
【図 2】

血中クレアチニン (mg/100ml)



【図3】

クレアチニン・クリアランス (ml/min)



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 有効な腎疾患治療または予防剤、および腎疾患の診断方法を提供すること。

【解決手段】 カゼインキナーゼ 2 を阻害する物質を有効成分として含有する腎疾患の治療または予防剤を提供した。また、生体から分離した試料中のカゼインキナーゼ 2 の活性若しくは含有量又はカゼインキナーゼ 2 遺伝子の発現量を測定することを含む、腎疾患の診断方法を提供した。

【効果】 本発明による腎疾患治療剤または予防剤は、従来の薬剤で十分な効果が期待できなかった腎疾患の優れた治療剤または予防剤となる。また、本発明の診断方法によって腎疾患の病態を的確に効率よく診断することができる。

【選択図】 図 1

認定・付加情報

特許出願の番号	特願 2002-229262
受付番号	50201168089
書類名	特許願
担当官	第五担当上席 0094
作成日	平成14年 8月 7日

<認定情報・付加情報>

【提出日】	平成14年 8月 6日
-------	-------------

次頁無

特願 2002-229262

出願人履歴情報

識別番号

[000003159]

1. 変更年月日

1990年 8月29日

[変更理由]

新規登録

住 所

東京都中央区日本橋室町2丁目2番1号

氏 名

東レ株式会社

2. 変更年月日

2002年10月25日

[変更理由]

住所変更

住 所

東京都中央区日本橋室町2丁目2番1号

氏 名

東レ株式会社